



①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 196 54 445 A 1**

⑤ Int. Cl.<sup>6</sup>:  
**A 61 K 31/135**  
A 61 K 31/505

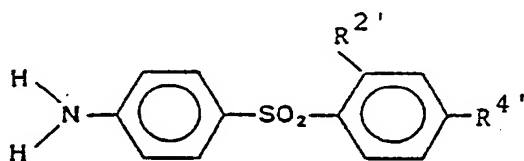
⑳ Aktenzeichen: 196 54 445.9  
㉒ Anmeldetag: 31. 12. 96  
㉓ Offenlegungstag: 2. 7. 98

DE 196 54 445 A 1

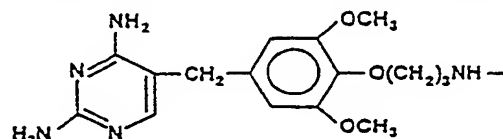
㉑ Anmelder:  
Seydel, Joachim K., Prof. Dr., 23845 Borstel, DE  
  
㉔ Vertreter:  
Uexküll & Stolberg, 22607 Hamburg

㉒ Erfinder:  
Seydel, Joachim K., Dr., 23845 Borstel, DE;  
Coleman, Michael D., Dr., Birmingham, GB; Perris,  
Alan D., Dr., West Midlands, GB; Buck, Nicola S.,  
Cheshire, GB; Smith, Joanna K., Peterborough, GB

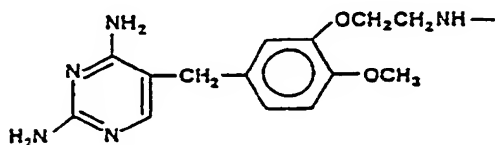
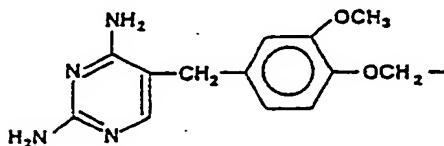
- ⑤4 Verwendung von substituierten 4-Aminodiphenylsulfonen zur Behandlung von entzündlichen Erkrankungen  
⑤7 Verwendung von substituierten 4-Aminodiphenylsulfonen der allgemeinen Formel



in der R<sup>2'</sup> die Bedeutung -H, -R, -ROH, -OR, -NH<sub>2</sub>, -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, -NHR<sup>3</sup>, -X, -OH, -CN, -NO<sub>2</sub>, -CX<sub>3</sub>, -CONH<sub>2</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>2</sub>X<sub>2</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CX<sub>3</sub>, -COR, -CONH<sub>2</sub>, -CONHR<sup>3</sup> oder -COOR, und R<sup>4'</sup> die Bedeutung -R, -NH<sub>2</sub>, -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, -NHR<sup>3</sup>, -NH(CO)R, -OR, -COOH, -COOR, -CONHNH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>2</sub>COOH, -NHCH<sub>2</sub>COOR, -NHCH<sub>2</sub>CONHNH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -COR oder



hat, wobei R, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> und R<sup>3</sup> unabhängig voneinander einen geradkettigen oder verzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-Alkyl- oder C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>-Cycloalkylrest darstellen, n eine ganze Zahl von 0 bis 6 und X Halogen ist, zur Behandlung von nicht-bakteriellen, nicht-parasitären entzündlichen Erkrankungen.



DE 196 54 445 A 1

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von substituierten 4-Aminodiphenylsulfonen zur Behandlung von nicht-bakteriellen, nicht parasitären entzündlichen Erkrankungen, insbesondere zur Behandlung von Erkrankungen, die mit der Einwanderung neutrophiler Leukozyten in den Entzündungsbereich einhergehen.

Zahlreiche Erkrankungen des Menschen werden durch Entzündungsreaktionen verursacht, in deren Folge häufig Organ- und Gewebeschädigungen auftreten. Neben Infektionen, beispielsweise durch pathogene Bakterien, treten Entzündungen auch als unerwünschte Folge von Autoimmunerkrankungen auf.

Ein Beispiel für eine solche nicht-bakterielle, nicht-parasitäre Entzündung ist Dermatitis herpetiformis (DH), die im Jahre 1884 zum ersten Mal von Louis A.D. Duhring beschrieben wurde. Die Ätiologie dieser Erkrankung umfaßt die Ablagerung von Antigen-Antikörper-Komplexen an der Basalmembran, wodurch es zu einer Komplementaktivierung und Infiltration von neutrophilen Leukozyten kommt. Das klinische Bild der Krankheit ist durch herpesähnliche Bläschen auf der Haut und einen stark brennenden Juckreiz gekennzeichnet. Die Diagnose von DH erfolgt nach allgemein anerkannten Kriterien (vgl. Zone, J.J., Dermatitis herpetiformis, Curr. Probl. Derm. Vol. 3 : 4 42 [1991]).

Weitere Beispiele für nicht-bakterielle, nicht-parasitäre Entzündungserkrankungen, die ebenfalls mit einer Einwanderung und Degranulation neutrophiler Leukozyten einhergehen, sind rheumatische Arthritis, Pemphigus und hypoxischer Schock.

Zur therapeutischen Behandlung von DH wird in erster Linie 4,4'-Diaminodiphenylsulfon (Dapson) verwendet. Dapson hemmt vermutlich die Adhäsion und Degranulation von neutrophilen Leukozyten. Es wird ferner angenommen, daß Dapson die Lipoxxygenaseaktivität und die Fähigkeit der Zellen, reaktive Sauerstoffspezies zu erzeugen, inhibiert (Thuong-Nguyen et al. J. Invest. Dermatol., Vol. 100 : 349-55 [1993]; und Wozel und Lehmann, Skin Pharmacol. Vol. 8 : 196-202 [1995]). Neuere Untersuchungen lassen vermuten, daß der therapeutische Effekt von Dapson durch Interaktion des Sulfons mit dem sogenannten G-Protein zustandekommt. Dieses Protein kontrolliert einen zentralen Schritt bei der Bildung von oxidativen Molekülen in neutrophilen Leukozyten (Debol et al., J. Invest. Dermatol., Vol. 104 : 647 [1995]).

Die klinische Reaktion der Patienten auf Dapson variiert stark und erfordert Dosierungen von 50 bis 300 mg Dapson pro Tag und Patient. Insbesondere bei höheren Dosierung führen jedoch die Hydroxylamin-Metabolite des Dapsone zu erheblichen Nebenwirkungen wie Hämolyse und Methämoglobin-Bildung (Coleman et al., Brit. J. Clin. Pharmacol., Vol. 34 : 224-49 [1990]; Manfredi et al., Br. J. Dermatol., Vol. 100 : 427-32 [1979]).

Zwar konnten diese Nebenwirkungen durch die gleichzeitige Gabe von Cimetidin, welches das für die Dapson-Toxizität verantwortliche Cytochrom P 450 hemmt, abgemildert werden (Rhodes et al., Brit. J. Dir., Vol. 132 : 257-62 [1995]), jedoch besteht nach wie vor Bedarf an alternativen Wirkstoffen, die bei gleicher oder besserer Aktivität weniger Nebenwirkungen zeigen.

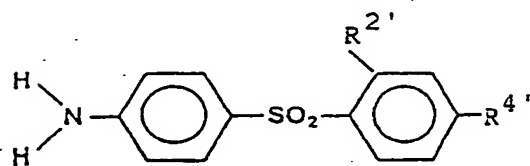
In in vitro Tests konnte ferner gezeigt werden, daß Dapson die hypoxische Reperfusion signifikant reduziert und sich daher zur Behandlung des hypoxischen Schocks eignet. Entsprechende klinischen Studien werden zur Zeit durchgeführt.

Die EP 0 165 422 und die EP 0 231 888 offenbaren die Herstellung substituiert Bis-(4-aminophenyl)sulfone, welche eine Hemmwirkung auf das Wachstum von Bakterien, Mykobakterien und Plasmodien aufweisen. Die Stoffe eignen sich besonders zur Behandlung von Malaria und Lepra. Die Verwendung dieser Substanzen zur Behandlung nicht-bakterieller oder nicht-parasitärer Entzündungen wird nicht beschrieben.

Pieper et al., Arzneimittelforschung/Drug Research 39 (11), 9, 1073-1080 [1989], Kansy et al., Europ. J. Med. Chem., 27, 237-244 [1992] und Wiese et al., Arch. Pharm. Med. Chem., 329, 161-168 [1996] beschreiben die Synthese von substituierten Diaminodiphenylsulfonen, die sich durch eine hohe Hemmwirkung gegenüber der 7,8-Dihydropteroinsäure-Synthese bzw. der Dihydrofolsäure-Reduktase von Plasmodien und Mykobakterien auszeichnen und sich daher besonders zur Behandlung der Malaria eignen. Die Behandlung nicht-bakterieller oder nicht-parasitärer Entzündungen wird nicht erwähnt.

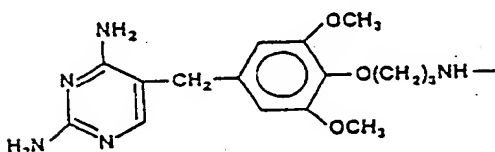
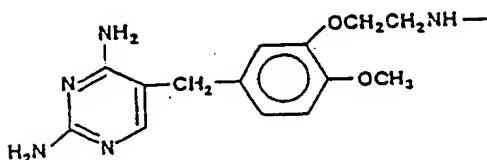
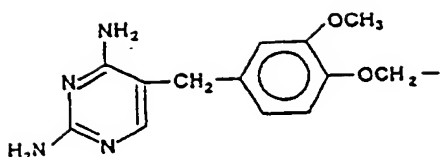
Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, entzündungshemmende Wirkstoffe mit im Vergleich zu Dapson wenigstens gleicher Aktivität und verringerter Toxizität zur Verfügung zu stellen, die auch in höheren Dosierungen ohne schädliche Nebenwirkungen verabreicht werden können.

Es wurde überraschenderweise gefunden, daß substituierte 4-Aminodiphenylsulfone der allgemeinen Formel



in der R<sup>2'</sup> die Bedeutung -H, -R, -ROH, -OR, -NH<sub>2</sub>, -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, -NHR<sup>3</sup>, -X, -OH, -CN, -NO<sub>2</sub>, -CX<sub>3</sub>, -CONH<sub>2</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CHX<sub>3</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CX<sub>3</sub>, -COR, -CONH<sub>2</sub>, -CONHR<sup>3</sup> oder -COOR und

R<sup>4'</sup> die Bedeutung -R, -NH<sub>2</sub>, -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, -NHR<sup>3</sup>, -NH(CO)R, -OR, -COOH, -COOR, -CONHNH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>2</sub>COOH, -NHCH<sub>2</sub>COOR, -NHCH<sub>2</sub>CONHNH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -COR oder



hat,

wobei R, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> und R<sup>3</sup> unabhängig voneinander einen geradkettigen oder verzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl- oder C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>-Cycloalkylrest darstellen, n eine ganze Zahl von 0 bis 6 und X Halogen ist,

eine mit Dapson vergleichbare oder bessere Aktivität bei der Hemmung der an nicht-bakteriellen, nicht-parasitären Entzündungen beteiligten biologischen Prozesse bei deutlich reduzierter Toxizität zeigen und daher in besonderem Maße zur Behandlung von nicht-bakteriellen, nicht-parasitären entzündlichen Erkrankungen geeignet sind.

R, R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> stellen vorzugsweise unabhängig voneinander einen geradkettigen oder verzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl-, besonders bevorzugt C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkyl-, und R<sup>3</sup> einen geradkettigen oder verzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl-, besonders bevorzugt C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkyl-, oder C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>-Cycloalkylrest dar. X ist vorzugsweise -F, -Cl und/oder -Br, besonders bevorzugt -F, und n ist vorzugsweise eine ganze Zahl von 0 bis 4, besonders bevorzugt 0 bis 2.

R<sup>2</sup> hat vorzugsweise die Bedeutung -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OH, -OCH<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>3</sub>, -F, -Cl, -Br, -OH, -CN, -NO<sub>2</sub>, -CF<sub>3</sub>, -CONH<sub>2</sub>, -COCH<sub>3</sub>, -CONH<sub>2</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>2</sub>F<sub>2</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CF<sub>3</sub>, oder -COOCH<sub>3</sub>, besonders bevorzugt die Bedeutung -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub>, -OH, -NH<sub>2</sub> oder -CF<sub>3</sub>.

R<sup>4</sup> ist vorzugsweise -R, -NH<sub>2</sub>, -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, -NHR<sup>3</sup>, -NH(CO)R oder -C(O)R, besonders bevorzugt -R, -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>3</sup>, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH(CO)CH<sub>3</sub>, -OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> oder -OCH<sub>3</sub>, wobei R, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> und R<sup>3</sup> die oben angegebene Bedeutung haben.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform hat R<sup>4</sup> die Bedeutung -NH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>3</sub>, -NH(CO)CH<sub>3</sub> oder -NHC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.

Ganz besonders bevorzugt ist die Verwendung folgender substituierter 4-Aminodiphenylsulfone: 4-Amino-2'-cyano-4'-ethylaminodiphenylsulfon, 4-Amino-2'-methyl-4'-methyldiamino-diphenylsulfon, 4-Amino-2'-trifluormethyl-4'-aminodiphenylsulfon, 4-Amino-2'-trifluormethyl-4'-ethylamino-diphenylsulfon, 4-Amino-2'-methoxy-4'-ethylamino-diphenylsulfon, 4-Amino-2'-nitro-4'-amino-diphenylsulfon, 4-Amino-2',4'-diamino-diphenylsulfon, 4-Amino-2'-methyl-4'-acetylamino-diphenylsulfon oder 4-Amino-2'-hydroxy-4'-aminopropyl-diphenylsulfon.

Die Herstellung der erfindungsgemäß verwendeten substituierten 4-Aminodiphenylsulfone ist aus dem Stand der Technik bekannt (s. z. B. Piper et al., *Arzneim. Forsch./Drug Research*, 39, 1073-1080 [1989]; W. Wenner, *J. Org. Chem.* 22, 1508, [1957]; Burton und Hoggarth, *Chem. Soc. (London)* 1945, 468; Roblin et al., *J. Am. Chem. Soc.* 63, 1930 [1941]; Amstutz et al., *J. Am. Chem. Soc.* 69, 1922, [1947]; Knüsli, *Gazz. Chim. Ital.* 80, 522, [1950]; Kansy et al., *Eur. J. Med. Chem.* 27, 237-244, [1992]; Wiese et al., *Arch. Pharm. Med. Chem.* 329, 161-168, [1996]; EP 0 165 422; EP 0 231 888).

Die erfindungsgemäß verwendeten 4-Aminodiphenylsulfone lassen sich unter Verwendung üblicher Trägerstoffe, Verdünnungsmittel und/oder anderer pharmazeutischer Hilfsstoffe zu Tabletten, Drageés, Salben und Injektionslösungen verarbeiten. Die Herstellung von Tabletten, Drageés und Injektionslösungen kann beispielsweise auf die in der EP 0 165 422 beschriebenen Weise erfolgen.

Die Dosierung des Wirkstoffs hängt von der geplanten Verwendung und Applikationsform ab. Die optimale Dosierung kann im Einzelfall vom Fachmann anhand von Routinetest ohne weiteres bestimmt werden. Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird das Arzneimittel so formuliert, daß es pro Dosierungseinheit 50 bis 500 mg Wirkstoff enthält.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wurde überraschenderweise festgestellt, daß die erfindungsgemäß verwendeten substituierten 4-Aminodiphenylsulfone im respiratorischen Burst-Test und im Zell-Adhäsionstest eine höhere antiinflammatorische Aktivität als Dapson aufweisen, gleichzeitig aber sowohl in vitro als auch in vivo eine deutlich geringere Toxizität besitzen.

Die erfindungsgemäß verwendeten 4-Aminodiphenylsulfone eignen sich besonders zur Behandlung von nicht-bakte-

riellen, nichtparasitären entzündlichen Erkrankungen, in deren Verlauf neutrophile Leukozyten in den Entzündungsbe-  
reich einwandern, insbesondere zur Behandlung von Hauterkrankungen wie Dermatitis herpetiformis, sowie zur Be-  
handlung von Pemphigus, chronischer rheumatoider Arthritis oder hypoxischem Schock.

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Ausführungsbeispielen näher beschrieben.

5

## Beispiel 1

## Respiratorischer Burst-Test

10 Die Fähigkeit der erfindungsgemäß verwendeten substituierten 4-Aminodiphenylsulfone die Degranulation und das  
respiratorische Bersten neutrophiler Leukozyten zu inhibieren, wurde an Meerschweinchen-Serum gemessen, das mit  
opsonisiertem Zymosan behandelt worden war (vgl. De Sole et al., Acta Med. Rom., Vol. 22: 178-195 [1984] und De-  
Chalet et al., J. Immunol., Vol. 129: 1589-1593 [1982]).

15 5 mg/ml Zymosan (Sigma) wurden in Meerschweinchen-Serum (Gibco, UK) suspendiert und für 20 Minuten bei  
37°C in einer 95 : 5% Luft/CO<sub>2</sub>-Atmosphäre inkubiert. Die Zymosanpartikel wurden 3 mal mit RPMI 1640 Medium ge-  
waschen, in einer Konzentration von 5 mg/ml in RPMI resuspendiert und bis zur weiteren Verwendung bei 4°C gelagert.

300 µl opsonisiertes Zymosan wurden dann mit 100 µl Vollblut (gewonnen durch Venenpunktur von gesunden Volon-  
tären im Alter von 25-55 Jahren) und 100 µl 5 × 10<sup>-4</sup> M Lucigenin (Sigma) versetzt und anschließend die Chemolumi-  
neszenz in einem Bio-Orbit 1253 Luminometer (Labtech Internat., Sussex UK) bei einer Wellenlänge von 425 nm in In-  
tervalen von 5 Minuten bis zur Konstanz gemessen. Alle Messungen erfolgten bei 37°C in der Dunkelheit.

20 Zur Bestimmung der Aktivität der substituierten 4-Aminodiphenylsulfone wurde der Wirkstoff in Konzentrationen  
von 0,5 mM, 1,0 mM oder 1,5 mM zu dem Vollblut gegeben und für 30 Minuten bei 37°C inkubiert, danach mit dem op-  
sonisiertem Zymosan vermischt und dann die Chemolumineszenz bestimmt. Jede Bestimmung wurde 4-fach durchge-  
führt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 als Durchschnitt der gemessenen Lumineszenz-Einheiten dargestellt. Die Struktur  
25 der untersuchten 4-Aminodiphenylsulfonderivate ergibt sich aus Tabelle 5.

Die Zugabe von Dapson führte in allen Versuchen zu einer Hemmung des durch Zymosan induzierten respiratorischen  
Berstens der neutrophilen Leukozyten. Die Zugabe der erfindungsgemäß verwendeten substituierten 4-Aminodiphenyl-  
sulfone zu dem Reaktionsansatz bewirkte eine im Vergleich zu Dapson stärkere Hemmung der neutrophilen Leukozyten.  
Insbesondere die Substanzen ABDD 37, ABDD 1, PXDD 4, WFC 1, PXDD 19, AXDD 13, W13 und W25 wiesen eine  
30 deutlich höhere Aktivität auf.

35

40

45

50

55

60

65

Tabelle 1

Aktivität erfindungsgemäß verwendeter 4-Aminodiphenylsulfone im respiratorischen Burst-Test

Wirkstoff	kein Wirkstoff n. stimuliert	kein Wirkstoff stimuliert	Wirkstoff 0,5mM	Wirkstoff 1mM	Wirkstoff 1,5mM	Dapson 1mM
ABDD1	26 ± 1	113 ± 2	47 ± 3*	24 ± 3**	24 ± 2**	63 ± 9
ABDD5	15 ± 2	200 ± 20	96 ± 4**	95 ± 5**	64 ± 2***	146 ± 5
ABDD13	6,3 ± 5,6	200,1 ± 28,0	-	15,1 ± 1,0	-	24 ± 1,7
ABDD37	16,2 ± 3,0	261,2 ± 28,3	-	20,9 ± 1,5	-	30,2 ± 6,8
ABDD39	21 ± 3	172 ± 6	46 ± 4	33 ± 5*	32 ± 2*	48 ± 4
AXDD16	31 ± 2	245 ± 4	189 ± 4	182 ± 6	65 ± 3***	197 ± 22
AXDD17	43 ± 3	238 ± 26	239 ± 13	164 ± 20	119 ± 31*	170 ± 20
PXDD4	18 ± 5	164 ± 5	28 ± 2**	25 ± 2**	16 ± 2**	65 ± 5
PXDD19	33 ± 5	299 ± 19	167 ± 43*	123 ± 6**	32 ± 3***	224 ± 4
WFC1	20 ± 2	287 ± 24	189 ± 13*	106 ± 7**	32 ± 4***	211 ± 8
W10	29 ± 2	116 ± 6	63 ± 16	37 ± 5**	21 ± 5**	80 ± 7
W13	73 ± 9	286 ± 31	103 ± 9**	55 ± 6***	35 ± 3***	234 ± 15
W25	26 ± 5	375 ± 5	205 ± 12**	170 ± 6***	160 ± 8***	255 ± 2
SE 12	7,2 ± 1,2	321 ± 55	-	162,3 ± 15	-	79,5 ± 14
SE 14	7,2 ± 1,2	321 ± 55	-	251,2 ± 32	-	79,5 ± 14
SE 16	7,2 ± 1,2	321 ± 55	-	91,6 ± 14	-	79,5 ± 14
SE 17	7,2 ± 1,2	321 ± 55	-	303,2 ± 15	-	79,5 ± 14
SE 62	7,2 ± 1,2	321 ± 55	-	173,2 ± 15	-	79,5 ± 14
K-130	20 ± 6	205 ± 10	111 ± 6	86 ± 4	81 ± 7	104 ± 6
K-120	30 ± 2	700 ± 20	530 ± 30	390 ± 20	-	530 ± 20
K-138	10 ± 0,5	220 ± 5	240 ± 20	300 ± 10	-	180 ± 10
DRS-506	31 ± 0,1	420 ± 20	210 ± 10	230 ± 10	-	300 ± 20

\* P < 0,05  
 \*\* P < 0,01  
 \*\*\* P < 0,001

## Beispiel 2

## Zelladhäsionstest

Die Fähigkeit der erfindungsgemäß verwendeten substituierten 4-Aminodiphenylsulfone die Bindung neutrophiler Leukozyten an humane umbilikale Venenzellen zu hemmen, wurde in vitro bestimmt. Hierzu wurden neutrophile Leukozyten aus humanem Blut nach dem Verfahren von Afford (Afford et al., J. Biol. Chem., Vol. 267 : 21612-16 [1992]) isoliert.

Zur Sedimentation der Erythrozyten wurden 1,5 ml Hespan (AAH Pharmaceuticals, Kingswinford, UK) mit 10 ml Vollblut vermischt und für 45 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die obere Leukozyten-Schicht wurde isoliert und mit einem gleichen Volumen einer Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> freien phosphatgepufferten Salzlösung (PBS; Sigma) verdünnt. 2 ml dieser Zellsuspension wurden dann auf einen isotonischen Percoll-Gradienten (Sigma) geschichtet, der hergestellt wurde, indem 3 ml 60 Gew.-% Percoll über 2 ml 80 Gew.-% Percoll geschichtet wurden. Der Ansatz wurde für 20 Minuten bei 200 g zentrifugiert. Die neutrophilen Leukozyten wurden aus der Interphase gewonnen, zweimal in PBS gewaschen und in einer Endkonzentration von 1 · 10<sup>6</sup> Zellen/ml in PBS suspendiert.

Die Reinheit der Zellen wurde nach Anfärbung mit Diff-Quick (Gamidor Ltd., UK), einem Farbstoff zur Anfärbung von Leukozyten, bestimmt. Die Zellen bestanden zu mehr als 95% aus neutrophilen Leukozyten.

Die Zelladhäsions-Experimente wurden mit transformierten humanen umbilikalen Venenzellen (ECACC ECV 304) durchgeführt, die in dem Nährmedium (DMEM; Streptomycin 1 U/ml; Penicillin 100 µg/ml, 10% FCS (fetales Kälberserum) bis zur Konfluenz gezogen wurden. Anschließend wurde das Medium entfernt und durch 100 µl eines Mediums ersetzt, welches 10 mg/ml humanes Interleukin-1- $\alpha$  (h IL-1 $\alpha$ ) enthielt. Die Zellen wurden in diesem Medium für 4 Stunden bei 37°C und einer 95/5% Luft/CO<sub>2</sub> Atmosphäre inkubiert. Anschließend wurde das Medium entfernt und der Ansatz dann mit 100 µl der neutrophilen Leukozyten versetzt, die zuvor mit einem Wirkstoff oder einer Kontroll-Lösung behandelt worden waren.

Hierzu wurden die neutrophilen Leukozyten für 30 Minuten bei 37°C in einer wässrigen Lösung inkubiert, die Dapson in einer Konzentration von 1 mM oder ein substituiertes 4-Aminodiphenylsulfonderivat in einer Konzentration von 0,5 mM, 1 mM, 1,5 mM oder keinen Wirkstoff enthielt.

Anschließend wurden die neutrophilen Leukozyten zu den humanen Venenzellen gegeben und der Ansatz für 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Danach wurden die ungebundenen Zellen durch zweimaliges Waschen mit 100 µl PBS entfernt und die Anzahl der gebundenen Zellen nach dem Verfahren von Junger et al. (J. Immunol. Meth., Vol. 160 : 73-9 [1993]) bestimmt. Hierzu wurden die gebundenen neutrophilen Leukozyten mit 40 µl 0,2% V/V Triton-X-100 in PBS inkubiert. Die freigesetzte Myeloperoxydase wurde mit Wasserstoffperoxid (0,02%) als Substrat und o-Dianisidindihydrochlorid (0,34 mM) als Chromogen bei pH 5 photometrisch bestimmt. Die Chemolumineszenz wurde bei 405 nm gemessen.

Der Konzentrationsbereich von 0,5-1,5 mM wurde in Beispiel 1 und 2 gewählt, weil in vitro Pilotversuche gezeigt hatten, daß Dapson bei einer Konzentration von 1 mM seine maximale inhibitorische Aktivität aufweist. Die Fähigkeit der untersuchten substituierten 4-Aminodiphenylsulfone und von Dapson zur in vitro Hemmung der durch IL 1 stimulierten Zelladhäsion neutrophiler Leukozyten ist in Tabelle 2 dargestellt. Jede Versuchsreihe enthielt Dapson als Referenzwert; alle Bestimmungen wurden 3-fach durchgeführt. Die Ergebnisse werden als durchschnittliche prozentuale Bindung dargestellt.

In allen Versuchen reduzierte Dapson (1 mM; letzte Spalte) im Vergleich zu wirkstofffreien stimulierten Zellen (4. Spalte) die Adhäsion neutrophiler Leukozyten ( $P < 0,05$ ). Die Aktivität der erfindungsgemäß verwendeten substituierten 4-Aminodiphenylsulfone war jedoch im Vergleich zu Dapson wesentlich höher.

Die Ergebnisse zeigen somit, daß die substituierten 4-Aminodiphenylsulfone die Zelladhäsion neutrophiler Leukozyten im Vergleich zu Dapson deutlich besser inhibieren.

Tabelle 2

Hemmung der Zelladhäsion durch erfindungsgemäß verwendete 4-Aminodiphenylsulfone

Wirkstoff	kein Wirkstoff n. stimuliert	kein Wirkstoff stimuliert	Wirkstoff 0,5mM	Wirkstoff 1mM	Wirkstoff 1,5mM	Dapson 1mM
ABDD1	17,4 ± 4,3	31,5 ± 2,1	8,6 ± 3,1**	10,8 ± 5,4*	10,8 ± 5,4*	20,6 ± 1,0
ABDD5	22,4 ± 11,2	56,1 ± 5,6	25,2 ± 3,9*	32,0 ± 2,8	29,7 ± 0,5	32,0 ± 2,8
ABDD39	11,9 ± 2,3	28,5 ± 2,1	19,2 ± 5,9	28,5 ± 1,0	29,1 ± 3,0	21,4 ± 4,7
AXDD16	22,4 ± 11,2	56,1 ± 5,7	22,4 ± 5,6	26,4 ± 0,5*	26,3 ± 5,0*	32,0 ± 2,8
AXDD17	22,4 ± 11,2	56,1 ± 5,6	20,1 ± 2,0**	28,0 ± 3,9	19,6 ± 0,5**	32,0 ± 2,8
PXDD4	11,0 ± 2,0	28,0 ± 2,2	27,3 ± 9,5	18,5 ± 2,1	17,6 ± 1,4	21,4 ± 4,7
PXDD19	11,9 ± 2,3	28,5 ± 2,1	16,6 ± 1,1	18,5 ± 2,1	17,6 ± 1,4	21,4 ± 4,7
PXDD21	-	100	-	23,0	-	32,5
PXDD22	-	100	-	24,6	-	32,5
WFC 1	22,4 ± 11,2	56,1 ± 5,6	22,4 ± 5,6*	22,4 ± 3,3*	21,9 ± 4,4*	32,0 ± 2,8
W10	17,4 ± 4,0	31,5 ± 2,1	7,6 ± 2,0**	6,5 ± 3,5**	13,1 ± 5,4*	20,6 ± 1,0
W13	32,8 ± 1,7	52,6 ± 5,5	28,5 ± 3,5**	20,3 ± 10,7*	15,7 ± 7,1**	37,5 ± 3,5
W25	11,6 ± 2,3	28,5 ± 2,1	16,6 ± 3,3	15,9 ± 4,9	16,6 ± 1,1	21,4 ± 4,7
K-130	32,1 ± 1,7	50,1 ± 7,1	-	32,1 ± 7,0	25,0 ± 0,7	37,5 ± 3,5
K-120	11,5 ± 11	65,4 ± 2,0	49,0 ± 12	-	-	42,7 ± 0,6
K-138	11,5 ± 11	65,4 ± 2,0	38,6 ± 15	-	-	42,7 ± 0,6
DRS-506	11,5 ± 11	65,4 ± 2,0	38,3 ± 14	-	-	42,7 ± 0,6

\* P < 0,05  
 \*\* P < 0,01  
 \*\*\* P < 0,001

## Beispiel 3

## Lipophilie erfindungsgemäß verwendeter 4-Aminodiphenylsulfone

Zur Bestimmung der lipophilen Eigenschaften der erfindungsgemäß verwendeten substituierten 4-Aminodiphenylsulfone wurde die HPLC-Technik verwendet. Dazu wurden die Substanzen in eine mit Oktanol gesättigte C-18 Corasil-Säule injiziert und ihre Retentionszeit im Vergleich zu Dapson bestimmt. Als mobile Phase diente Oktanol-gesättigter Phosphatpuffer, pH 7,4, Ionenstärke 0 0,15 µ. Als Maß für die Lipophilie der Verbindungen dient ihr log-K'-Wert, der nach der folgenden Formel ermittelt wurde:

$$\log K' = (t_r - t_0) / t_0$$

$t_r$ : ermittelte Retentionszeit

$t_0$ : Totvolumen der Säule, bestimmt mit Thioharnstoff

Die gefundenen log K'-Werte sind in Tabelle 3 dargestellt.

## Beispiel 4

## In vitro Toxizität

Die Toxizität der erfindungsgemäß verwendeten substituierten 4-Aminodiphenylsulfone wurde anhand der Methämoglobin-Bildung in vitro in einem Zweikammersystem gemessen. Hierzu wurde ein Behälter verwendet, der durch eine Zellulosemembran mit einer Ausschußgrenze von 5 kDa in zwei Kammern aufgetrennt wurde (vgl. Tingle et al., Br. J.

Clin. Pharmacol., Vol. 30: 829-838 [1990]).

Kammer A enthielt Mikrosomen, die nach dem Verfahren von Purba et al. (Br. J. Clin. Pharmacol., Vol. 23: 447-453 [1987]) aus Ratten isoliert wurden. Die Mikrosomen lagen in einer Lösung aus 1 mM NADPH und 5 µl DMSO vor. Die Testsubstanzen wurden in einer Konzentration von 100 µM zugegeben. Die Kontrollen enthielten 1% DMSO und Puffer; die mikrosomalen Kontrollen enthielten alle Substanzen mit Ausnahme von NADPH.

Tabelle 3

Lipophilie und in vitro Toxizität erfindungsgemäß verwendeter 4-Aminodiphenylsulfone

Wirkstoff	% Methämoglobin		Zell-Burst		% Zelladhäsion		log K'
	Wert	Rang	Wert	Rang	Wert	Rang	
Dapson	34,3	30	1,0	13	1,00	11	0,34
AXDD 13	31,24	26	1,56	7			1,66
AXDD 11	22,12	19					2,09
AXDD 19	22,27	20					3,03
WFC 2	4,00	3	1,98	5	1,43	4	
AXDD 17	18,90	14	1,04	12	1,14	10	3,75
AXDD 16	17,90	11	1,08	11	1,21	8	4,25
PXDD 20	19,11	15					1,86
PXDD 19	22,90	22	1,83	6	1,16	9	2,45
PXDD 4	28,20	25	2,60	2			1,41
ABDD 5	12,40	7	1,43	10			-0,09
ABDD 2	22,50	21			1,14	9	1,26
ABDD 1	18,00	12	2,63	3	1,91	2	1,93
ABDD 37	17,15	9	1,82	6			1,86
ABDD 39	31,60	28	1,53	8	0,75	12	0,89
AXDD 2	27,37	24					1,06
AXDD 7	20,51	18					1,32
NXDD 8	19,40	16					1,63
NXDD 11	2,06	1					-1,53
NXDD 18	19,96	17					0,19
W 10	34,50	31	2,16	4	3,17	1	1,28
W 13	28,40	26	4,26	1	1,85	3	0,85
W 25	33,40	29	1,50	9	1,34	6	-0,09
PXDD 21	17,45	10			1,42	5	
PXDD 22	17,00	8			1,32	7	
SE 12	18,80	13	0,49				1,77
SE 14	6,17	4	0,32				-2,47
SE 15	10,60	6					-0,2
SE 16	7,03	5	0,86				0,72
SE 17	3,73	2	0,26				-1,72
SE 62	23,4	3	0,46				0,57

Kammer B enthielt 500 µl gewaschene humane Erythrozyten (50% Hematokrit). Die Proben wurden für eine Stunde in einem Wasserbad bei 37°C inkubiert.



Alle Versuche wurden jeweils dreifach durchgeführt. In den NADPH freien Inkubationsansätzen konnte keine Methämoglobin-Bildung nachgewiesen werden. Die Bestimmung der Methämoglobin-Bildung erfolgte mittels eines IL-482 CO-Oxymeters.

Die Ergebnisse dieses Versuchs sind in Tabelle 3 dargestellt und zeigen, daß die substituierten 4-Aminodiphenylsulfone im Vergleich zu Dapson eine deutlich verringerte Toxizität aufweisen.

#### Beispiel 5

##### In vivo Toxizität

Die in vivo Toxizität der erfindungsgemäß verwendeten substituierten 4-Aminodiphenylsulfone wurde im Vergleich zu Dapson in Katzen bestimmt. Hierzu wurden 200 mg des Wirkstoffs in Katzen injiziert und die prozentuale Methämoglobin-Bildung nach 5 und 24 Stunden gemessen.

Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse der Methämoglobin-Bildung nach 5 und 24 Stunden in Abhängigkeit von der injizierten Substanz und im Vergleich zu dem in Beispiel 3 gemessenen Log-K'-Werten. Die Ergebnisse zeigen eindeutig, daß die erfindungsgemäß verwendeten substituierten 4-Aminodiphenylsulfone in vivo wesentlich weniger toxisch sind als Dapson.

Die Ergebnisse zeigen außerdem, daß ein inverser Zusammenhang zwischen der Lipophilie und der Toxizität der untersuchten Substanzen besteht. Dies ist insofern überraschend als lipophile Substanzen im Organismus üblicherweise stärker metabolisiert werden, um ihre Wasserlöslichkeit und damit ihre Ausscheidungsgeschwindigkeit zu erhöhen. Hierdurch steigt die Wahrscheinlichkeit der Bildung toxischer Metabolite. Im Fall der erfindungsgemäß verwendeten 4-Aminodiphenylsulfone wird der gegenteilige Effekt, d. h. eine abnehmende Toxizität bei steigender Lipophilie beobachtet. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß die Substanzen aufgrund der durch die höhere Lipophilie bedingten stärkeren Bindung an Serumproteine in vivo vor der Metabolisierung geschützt werden und dadurch das Entstehen toxischer Metabolite verhindert wird.

Tabelle 4

in vivo Toxizität erfindungsgemäß verwendeter 4-Aminodiphenylsulfone

Substanz	R2'	R4'	%Methaemoglobin-Bildung nach		log k'
			5 Stunden	24 Stunden	
Dapson	H	NH <sub>2</sub>	6,09	4,4	0,339
AXDD 14	CH <sub>3</sub>	NHC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	0,0	0,0	2,218
AXDD 2	CL	NH <sub>2</sub>	7,20	3,26	1,058
SEDD 11	CL	NHC <sub>2</sub> H	0,0	0,0	2,225
PXDD 4	CF <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	0,55	0,0	1,409
PXDD 19	CF <sub>3</sub>	NHC <sub>2</sub> H	0,50	0,0	2,452

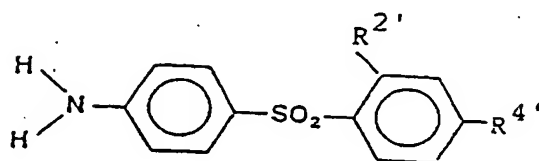
#### Beispiel 6

##### Bestimmung bevorzugter Wirkstoffe

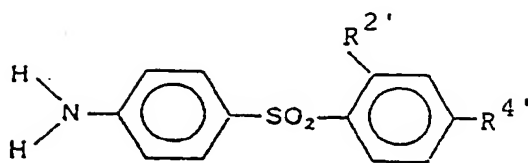
Um besonders bevorzugte Wirkstoffe zu identifizieren, wurde die Aktivität und in vitro Toxizität der Wirkstoffe bei 1 mM miteinander verglichen. Um die Ergebnisse der verschiedenen Ansätze untereinander vergleichbar zu machen (unterschiedlich starke Stimulation durch Zymosan bzw. Interleukin-1), wurde zunächst die Aktivität der erfindungsgemäßen Wirkstoffe in dem Zell-Burst- und Zelladhäsionstest durch die entsprechende Aktivität von Dapson dividiert. Der sich hierbei bei den jeweiligen Tests ergebende Rang der jeweiligen Verbindung ist in Tabelle 3 angegeben. Bevorzugt sind Wirkstoffe mit hoher Aktivität bei der Inhibition des respiratorischen Berstens und der Zelladhäsion, geringer in vitro Toxizität und einen hohen log K' Wert.

Tabelle 5

Struktur der in den Tabellen 1 bis 4 aufgeführten erfindungsgemäß verwendeten 4-Aminodiphenylsulfone



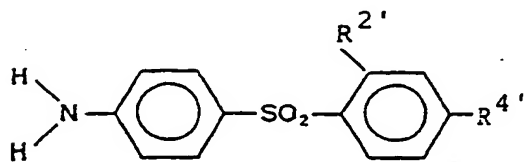
	R <sup>2'</sup>	R <sup>4'</sup>
Dapson, DDS	-H	-NH <sub>2</sub>
ABDD 1	-OH	-NHC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>
ABDD 2	-OH	-NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
ABDD 5	-OH	-NH <sub>2</sub>
ABDD 37	-CN	-NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
ABDD39	-CH <sub>2</sub> OH	-NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
AXDD 2	-Cl	-NH <sub>2</sub>
SEDD 11	-Cl	-NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
AXDD 7	-Br	-NH <sub>2</sub>
AXDD 11	-CH <sub>3</sub>	-NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
AXDD 13	-CH <sub>3</sub>	-NHCH <sub>3</sub>
AXDD 14	-CH <sub>3</sub>	-NHC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>
AXDD 16	-CH <sub>3</sub>	-NHC <sub>6</sub> H <sub>13</sub>
AXDD17	-CH <sub>3</sub>	-NHC <sub>5</sub> H <sub>9</sub>
AXDD 19	-CH <sub>3</sub>	-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
NXDD 8	-COOCH <sub>3</sub>	-NH <sub>2</sub>
NXDD 11	-CONH <sub>2</sub>	-NH <sub>2</sub>
NXDD 18	-COCH <sub>3</sub>	-NH <sub>2</sub>
PXDD 4	-CF <sub>3</sub>	-NH <sub>2</sub>
PXDD 19	-CF <sub>3</sub>	-NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
PXDD 20	-NHCH <sub>3</sub>	-NHC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>
PXDD 21	-NH <sub>2</sub>	-OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>
PXDD 22	-NHCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>



	$R^{2'}$	$R^{4'}$	
WFC 1	-CH <sub>3</sub>	-NHCOCH <sub>3</sub>	5
W 10	-OCH <sub>3</sub>	-NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	10
W 13	-NO <sub>2</sub>	-NH <sub>2</sub>	
W 25	-NH <sub>2</sub>	-NH <sub>2</sub>	
SE 12	-H	-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	15
SE 14	-H	-COOH	
SE 15	-H	-CONHNH <sub>2</sub>	20
SE 16	-H	-NHCH <sub>2</sub> COOCH <sub>3</sub>	
SE 17	-H	-NHCH <sub>2</sub> COOH	25
SE 62	-H	-NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	30
K 120	-H		35
K 130	-H		40
K 138	-H		45
DRS 506	-CH <sub>3</sub>		50

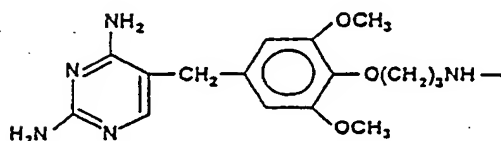
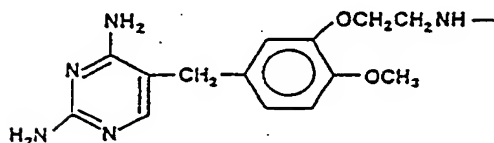
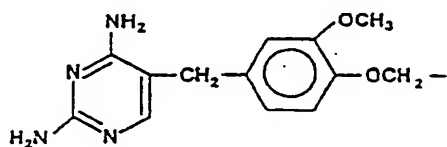
## Patentansprüche

1. Verwendung von substituierten 4-Aminodiphenylsulfonen der allgemeinen Formel



in der  $R^{2'}$  die Bedeutung -H, -R, -ROH, -OR, -NH<sub>2</sub>, -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, -NHR<sup>3</sup>, -X, -OH, -CN, -NO<sub>2</sub>, -CX<sub>3</sub>, -CONH<sub>2</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>2</sub>X<sub>2</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CX<sub>3</sub>, -COR, -CONH<sub>2</sub>, -CONHR<sup>3</sup> oder -COOR, und

R<sup>4'</sup> die Bedeutung -R, -NH<sub>2</sub>, -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, -NHR<sup>3</sup>, -NH(CO)R, -OR, -COOH, -COOR, -CONHNH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>2</sub>COOH, -NHCH<sub>2</sub>COOR, -NHCH<sub>2</sub>CONHNH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -COR oder



hat, wobei R, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> und R<sup>3</sup> unabhängig voneinander einen geradkettigen oder verzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl- oder C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>-Cycloalkylrest darstellen, n eine ganze Zahl von 0 bis 6 und X Halogen ist.

zur Behandlung von nicht-bakteriellen, nicht-parasitären entzündlichen Erkrankungen.

2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R, R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> unabhängig voneinander einen geradkettigen oder verzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl- und R<sup>3</sup> einen geradkettigen oder verzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl- oder C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>-Cycloalkylrest darstellen.

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß X -F, -Cl und/oder -Br ist.

4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß n eine ganze Zahl von 0 bis 4 ist.

5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß R<sup>2'</sup> die Bedeutung -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OH, -OCH<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>3</sub>, -F, -Cl, -Br, -OH, -CN, -NO<sub>2</sub>, -CF<sub>3</sub>, -CONH<sub>2</sub>, -COCH<sub>3</sub>, -CONH<sub>2</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>2</sub>F<sub>2</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CF<sub>3</sub> oder -COOCH<sub>3</sub> hat.

6. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß R<sup>2'</sup> die Bedeutung -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub>, -OH, -NH<sub>2</sub> oder -CF<sub>3</sub> hat.

7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß R<sup>4'</sup> die Bedeutung -R, -NH<sub>2</sub>, -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, -NHR<sup>3</sup>, -NH(CO)R oder -C(O)R hat.

8. Verwendung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß R<sup>4'</sup> die Bedeutung, -R, -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>3</sup>, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH(CO)CH<sub>3</sub>, -OC<sub>3</sub>H<sub>7</sub> oder -OCH<sub>3</sub> hat.

9. Verwendung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß R<sup>4'</sup> die Bedeutung -NH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>3</sub>, oder -NHC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> hat.

10. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das substituierte 4-Aminodiphenylsulfon 4-Amino-2'-cyano-4'-ethylamino-diphenylsulfon, 4-Amino-2'-methyl-4'-methyaminodiphenylsulfon, 4-Amino-2'-trifluormethyl-4'-amino-diphenylsulfon, 4-Amino-2'-trifluormethyl-4'-ethylamino-diphenylsulfon, 4-Amino-2'-methoxy-4'-ethylamino-diphenylsulfon, 4-Amino-2'-nitro-4'-amino-diphenylsulfon, 4-Amino-2',4'-diamino-diphenylsulfon, 4-Amino-2'-methyl-4'-acetylamino-diphenylsulfon oder 4-Amino-2'-hydroxy-4'-aminopropyl-diphenylsulfon ist.

11. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, zur Behandlung von nicht-bakteriellen, nicht-parasitären entzündlichen Erkrankungen, die mit der Einwanderung neutrophiler Leukozyten in den Entzündungsbereich einhergehen.

12. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, zur Behandlung entzündlicher Hauterkrankungen.

13. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, zur Behandlung von Dermatitis herpetiformis oder Pemphigus.

14. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, zur Behandlung chronischer rheumatoider Arthritis oder hypoxischem Schock.